Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Período reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202, 13207 13208, 13212 13221, 13223 13232, 13233	Noviembre-Enero	INSTITUTO SMITHSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES	03/02/2020

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

"LA CONSERVACIÓN EX SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO, RENOVACIÓN POR TRES AÑOS"

Período: Noviembre 2019-Enero 2020

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 3 de febrero de 2020

Introducción

El 1 de septiembre de 2019, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por tres años. Con este acuerdo se continuarán los esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC), que lleva a cabo las actividades de conservación ex situ dentro de instalaciones del STRI, ubicadas en Gamboa, provincia de Colón. En este informe se presentan los avances, de acuerdo a los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Noviembre 2019-Enero 2020.

A inicios de noviembre, fuimos seleccionados por la Asociación Alemana de Veterinarios de Anfibios y Reptiles (www.agark.de) como merecedores de la primera versión del *"Premio Dr. Frank Mutschmann"* internacional, al considerar que el artículo *"The relationship between spindly leg syndrome incidence and water composition, overfeeding, and diet in newly metamorphosed harlequin frogs (*Atelopus *spp.)"* fue una de las mejores publicaciones sobre medicina de anfibios que se publicó en los últimos 12 meses. En el artículo, el cual incluimos en el informe trimestral de agosto-octubre 2019, presentamos los resultados de los estudios experimentales sobre la composición del agua en el desarrollo del síndrome de patas débiles (Spindly Leg Syndrome o SLS), que es un importante factor limitante para la reproducción exitosa en cautiverio de especies de anfibios. El premio nos será formalmente otorgado a finales de abril en Alemania, durante el próximo congreso de dicha asociación que agrupa a más de 500 miembros de Alemania, Austria y Suiza.

Cabe destacar que, debido a la importancia de actualizar periódicamente la lista de los anfibios amenazados del mundo, hemos continuado comunicándonos con Kelsey Neam (Global Wildlife Conservation) para completar la información sobre algunas especies de anfibios de Panamá, que evaluamos para Lista Roja de la UICN en agosto pasado. Además, ya que nuestros esfuerzos de conservación ex situ incluyen a cinco especies de ranas del género *Atelopus*, un género altamente amenazado a lo largo de todo su ámbito de distribución, participamos en el taller internacional *"Salvando el género* Atelopus *de la extinción – Catalizando esfuerzos regionales de conservación"*, organizado por Global Wildlife Conservation y llevado a cabo durante 4-7 de noviembre de 2019, en Medellín, Colombia.

Objetivo 1. – Mantener la instalación para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso.

Con el propósito de mejorar la cría y reproducción de anfibios en cautiverio, seguimos invirtiendo en la capacitación de personal. Durante este período, tuvimos dos pasantes: Michelle Castellanos y Leni Lammens (biólogas), quienes apoyaron en el mantenimiento de los anfibios, la verificación de los registros de los individuos que se mantienen en cautiverio y en el estudio de las secreciones de la piel de los anfibios que inhiben el crecimiento del hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis*. A finales de enero, un tercer pasante, Elliot Lassiter (biólogo) ha estado apoyando al Dr. Luke Linhoff, nuestro colaborador postdoctoral, en un experimento sobre la efectividad de las secreciones la piel de anfibios en la supervivencia de ranas infectadas por este hongo. Colaboramos con la Dra. Gina Della Togna y su grupo de seis estudiantes para el desarrollo de técnicas de reproducción asistida en anfibios. Adicionalmente, durante este período, contamos con la ayuda de dos voluntarios en las instalaciones del proyecto PARC en Gamboa. A finales de enero, contratamos a dos personas adicionales; por lo que, actualmente, el proyecto PARC cuenta con 11 empleados tiempo completo, además tenemos el soporte de un grupo de doctores veterinarios especialistas en anfibios y un comité de apoyo para la implementación del proyecto de conservación ex situ, conformado por representantes de los zoológicos miembros del proyecto.

Realizamos trabajos de mantenimiento y reparación de equipo en la instalación de Gamboa, principalmente relacionados al reemplazo de aires acondicionados, temporizadores eléctricos, filtros de agua y el mantenimiento del generador eléctrico y de la planta de tratamiento de aguas residuales. Continuamos con los trabajos de equipamiento y habilitación del último contenedor para maximizar el espacio disponible para mantener anfibios en Gamboa. Adicionalmente, la empresa Kunkel Constructions Inc., a la cual se le adjudicó el contrato para la construcción de la pequeña edificación (150 m^2) destinada a la producción de invertebrados en Gamboa, continuó con los trabajos de construcción de la esta obra, bajo la supervisión de la oficina de instalaciones del STRI. Aún estamos a la espera del refrendo del convenio, derivado de la selección de nuestro proyecto por el Ministerio de Ambiente (MiAmbiente) en diciembre 2018, que financiará parcialmente la construcción del edificio para la producción de invertebrados. Mientras tanto, la producción de invertebrados continúa sin contratiempos en los salones temporales ubicados en el área conocida como Santa Cruz. Continuamos produciendo grillos, dos especies de moscas de las frutas, colémbolos, larvas de polilla, lombrices de tierra, cucarachas, larvas de escarabajos (“mealworms”), cochinillas y tenebrios para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. Durante este trimestre, la producción de estos invertebrados sobrepasa el nivel requerido como alimento de las ranas que tenemos en Gamboa, lo cual es adecuado en caso de que ocurra una caída repentina en la producción de alimento para los anfibios.

Edificio en construcción para la producción de invertebrados en Gamboa. Foto tomada el 2 de diciembre de 2019.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anfibios del área de Donoso, que manteníamos al 30 de enero de 2020, en Gamboa eran:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Total	Reproducción en cautiverio	Renacuajos
Andinobates geminisae	20	23	169	212	+	36
Atelopus varius	300	252	135	687	+	~100
Craugastor evanesco	21	19	26	66	+	-
Gastrotheca cornuta	8	2	1	11	-	-
Oophaga vicentei	21	26	0	47	+	0
Total	**370**	**322**	**331**	**1023**		**~136**

Nota: *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* no presentan etapa de larvaria o renacuajo libre.

Al 30 de enero de 2020, teníamos 1023 ranas de cinco especies de anuros del área de Donoso. Entre las especies, que se mantienen en cautiverio, están cinco Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*, *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco, Gastrotheca cornuta* y *Oophaga vicentei*. Esta última ha sido recientemente considerada como una especie en peligro por la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN, principalmente debido a que se trata de una especie endémica con una distribución restringida. Es relevante indicar que en el mes de enero retiramos individuos adultos de *A. geminisae* (20 individuos) y *A. varius* (20 individuos) de la instalación en Gamboa para llevar a cabo un experimento. Se trata de individuos excedentes, no incluidos en el conteo, que no son necesarios para constituir la población en cautiverio. Ahora, estos individuos forman parte de un experimento sobre la efectividad de las secreciones de la piel de anfibios en la supervivencia de ranas infectadas por el hongo *Bd* (ver Objetivo 2).

Para las especies *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco y Oophaga vicentei* originalmente se colectaron suficientes individuos fundadores para iniciar la población ex situ. Sin embargo, es recomendable obtener más individuos de *Atelopus varius* (6-10 hembras de la población en Nuevo Petaquilla) y *Gastrotheca cornuta* (13 machos y 19 hembras) para obtener una representatividad adecuada de su diversidad genética. La especie *G. cornuta* sido particularmente difícil de encontrar; por lo que, nos estamos concentrando en la búsqueda de más individuos de esta especie. Esperamos reanudar expediciones durante los meses de junio o julio de 2020, con el fin de recolectar más fundadores de *Gastrotheca cornuta*.

Hembra fundadora de *Oophaga vicentei* sobre hoja de bromelia.

Durante este período, se mantuvieron 15 parejas de *Andinobates geminisae* en tanques y hubo varios eventos de reproducción de estas parejas, para el final del período se tenían 36 renacuajos. En la última semana, hemos notado un aumento la puesta de

huevos de esta especie. Adicionalmente, en este trimestre, tratamos de fomentar la reproducción de las parejas de *Oophaga vicentei*, aumentando el número de bromelias por tanque y reemplazándolas con plantas bromelias que conservan más agua en sus axilas para la deposición de sus renacuajos. A pesar de esto, las 12 parejas de *O. vicentei* que se mantuvieron durante todo este período, produjeron solamente un juvenil que presentaba SLS y, en las últimas semanas, no hemos visto renacuajos. Recientemente, adquirimos bromelias artificiales, recomendadas especialmente para la reproducción de ranas dendrobátidas, las cuales ya hemos introducido a los tanques de las parejas de *O. vicentei*. Estamos monitoreando su uso para la deposición de renacuajos por parte de las hembras. Si notamos que éstas son utilizadas, procederemos a ordenar más y cambiar todas por bromelias artificiales, que no requieren ser reemplazadas frecuentemente.

Bromelia artificial que se está utilizando en tanques con parejas de *Oophaga vicentei*.

Mantuvimos 11 parejas de adultos de *Craugastor evanesco* en tanques para su reproducción, pero éstos no se reprodujeron. No obstante, desde finales de enero, tenemos una pareja de *C. evanesco* en abrazo nupcial, por lo que esperamos que depositen huevos próximamente. Se colocaron siete parejas de *Atelopus varius* en tanques de reproducción; de las cuales, una pareja puso huevos y se tienen unos 100 renacuajos de esta puesta; de la cual, actualmente, están saliendo post-metamorfos del tanque de reproducción. El resto de las parejas no puso huevos o colocaron huevos infértiles, que no se desarrollaron. En el trimestre pasado, la hembra fundadora de *Gastrotheca cornuta* se notaba grávida; por lo que, se le introdujo un macho a su tanque para que se reproduzcan. En este trimestre, la pareja aún se mantiene en un tanque; sin embargo, a pesar de que el macho emite llamados para atraer a la hembra, no se han reproducido. A través de estos intentos y eventos reproductivos seguimos conformando paulatinamente poblaciones estables en cautiverio de las especies EdI de Donoso.

En términos generales, continuamos notando que la prevalencia del síndrome de patas débiles (SLS) en los renacuajos y post-metamorfos de las especies que se reproducen en Gamboa se mantiene baja; lo cual, constituye un logro, ya que este síndrome impide el movimiento normal para una adecuada alimentación y conlleva a la muerte de los individuos post-metamorfos. La causa de este síndrome aún no ha sido completamente dilucidada, pero sabemos que no es debido a diferencias en el contenido proteínico de su dieta. Por esta razón, hemos estado realizando investigaciones para determinar las causas potenciales del SLS. La pasante Kathleen Higgins está por someter un manuscrito, que ha sido revisado en varias ocasiones por todos los coautores para su publicación, de los resultados de su experimento sobre el efecto que tienen el grado de cuidado y la calidad del agua en la prevalencia del SLS en renacuajos de *Andinobates*

Pareja de *Atelopus varius* en abrazo nupcial en tanque de reproducción.

geminisae. Adicionalmente, se tiene una versión avanzada del manuscrito sobre el estudio experimental del SLS con renacuajos de *Atelopus varius*, donde se varió la proporción de calcio y fósforo presentes del agua en los seis tratamientos diferentes del experimento.

Metamorfo saludable de *Atelopus varius*.

Además, se ha continuado con la introducción de datos de los individuos de Donoso en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org), lo cual facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros. En este trimestre, completamos una verificación de todos los individuos que se mantienen dentro de la instalación del proyecto PARC en Gamboa y su correspondiente registro en la base de datos ZIMS.

Objetivo 2. – Continuar el trabajo para ensayos de liberación de anfibios en el área de Donoso.

Para este trimestre, no teníamos programado realizar ensayos de liberación de anfibios. No obstante, en colaboración con el becario postdoctoral del Instituto Smithsonian, Dr. Luke Linhoff, iniciamos experimentos para determinar si las secreciones de la piel de las ranas realmente pueden disminuir o eliminar la infección por el hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis.* Se conoce que las secreciones de la piel que producen algunas especies de anfibios, en conjunto denominadas "mucosoma", inhiben el crecimiento del *B. dendrobatidis* en ensayos *in vitro*. Esto se ha observado incluso para el mucosoma de algunas especies que mantenemos en el proyecto PARC. Sin embargo, no sabemos si existe variación en las propiedades inhibitorias del mucosoma entre individuos de la misma especie o si las propiedades inhibitorias se heredan. Tampoco, se sabe si realmente el mucosoma puede ayudar a combatir el *B. dendrobatidis* en los individuos infectados. Es por esto, que requerimos realizar experimentos *in vivo* con individuos de especies con diferente grado de susceptibilidad a este hongo patógeno, éstas son: *Agalychnis callidryas*, *Andinobates geminisae*, *Atelopus certus*, *A. glyphus*, *A. limosus* y A. varius. Con el primer experimento *in vivo*, que iniciamos en este trimestre, deseamos determinar si existen

Dr. Luke Linhoff llevando a cabo el experimento *in vivo* sobre secreciones de la piel de ranas y su efecto sobre la infección por *B. dendrobatidis*.

diferencias la eficacia inhibitoria del mucosoma entre especies e individuos de la misma especie que están infectados por el *B. dendrobatidis*. En el caso de que el efecto inhibitorio del mucosoma contribuya a la supervivencia de las ranas infectadas, se procedería a investigar sobre la posibilidad que estas características del mucosoma se puedan heredar. Si existe un efecto inhibitorio consistente y el mismo se hereda, podríamos seleccionar individuos cuyo mucosoma tiene propiedades inhibitorias y cruzarlos entre sí, para producir descendientes con esta característica. Estas investigaciones son particularmente relevantes para llevar a cabo liberaciones exitosas de ranas, ya que pudiésemos liberar individuos con cierta tolerancia o resistencia al hongo patógeno que se encuentra en el ambiente natural de estas especies de ranas, proporcionándoles alguna ventaja contra este hongo.

Objetivo 3. – Realizar expediciones para recolectar ciertas especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período no realizamos expediciones para recolectar individuos. Como se indicó anteriormente, *Gastrotecha cornuta* es una Especie de Interés (EdI), de la cual se requieren más individuos fundadores para establecer adecuadamente una población ex situ en Gamboa. Esperamos realizar una expedición al sitio 4CS6 durante los meses de junio o julio de 2020, después de que se adecúe el helipuerto de este sitio.

Objetivo 4. - Estudio de los hongos patógenos de anfibios en la región de Donoso.

Debido a que no realizamos expediciones a Donoso en este trimestre, no obtuvimos muestras de piel para el análisis del hongo patógeno de anfibios, *Batrachochytrium dendrobatidis*.